

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 24 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861643

研究課題名(和文)炭酸アパタイト、スタチンに着目した新規骨増生法の開発

研究課題名(英文)Development of novel bone grafting method focusing on carbonate apatite and statin

研究代表者

ラフマティア ユニアドゥイ(Rakhmatia, Yunia Dwi)

九州大学・大学病院・研究員

研究者番号：30710214

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：歯科治療において、骨量が不足し治療に難渋することも稀ではない。特にインプラント治療においては骨増生術式が重要なオプションとなる。骨増生術式において予後に大きく影響するのは骨補填材料であると考えられるが、現在までに自家骨よりも有効であるとされる人工材料は開発されていない。そこで、本研究では骨基質と近い成分をもつ炭酸アパタイトと、骨新生促進効果が報告されているスタチンを混合した複合体に着目し、従来より広く用いられている水酸アパタイトとの比較を行った。その結果、炭酸アパタイトースタチン複合体が骨新生に促進的に作用することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：We often encounter the situation that there is not enough amount of jaw bone in the dental practice. So, bone grafting technique is one of the important options for dental implant treatment. For the bone grafting, bone grafting substitute is one of the most important factors effecting the outcome. But so far, there is no artificial material superior to autograft. In this study, we focused on the carbonate apatite and statin. We found that carbonate apatite-statin composite showed more enhancing effect on new bone formation compared to the conventional hydroxy apatite.

研究分野：歯科インプラント学

キーワード：骨補填材料

1. 研究開始当初の背景

近年、インプラントは優れた治療法として歯科治療に深く浸透している。またその技術発達によりインプラント治療の適応も著しく広がっている。それでも尚、難症例とされているのが広範な骨の欠損部に対するインプラント治療であり、骨の再建はインプラント治療だけでなく歯周病治療など歯科領域全体における重要な課題である。

骨増生術式において大きなウエイトを占めるのは骨補填材料である。現在、骨欠損部再建術の第一選択は骨移植、特に自家骨移植である。しかし、自家骨採取では健全部位への侵襲、採取可能な骨形態、骨量の制限などがあり、自家骨に代わる補填材として人工骨が注目を集めている。実際、国内外できわめて活発に研究が行われているものの、自家骨と同様に機能する人工骨補填材はいまだに開発されていない。なぜなら現在臨床応用されている骨補填材は細胞や成長因子を含まず、さらに、例えばハイドロキシアパタイトは高結晶性であるため破骨細胞により溶解されない(Fulmer et al. 2002 他)ためである。骨補填材料が骨芽細胞の足場(スキャフォールド)としての役割を果たした後は破骨細胞によって吸収され、天然の骨と置換していくことが重要であろう。このような置換をさせるためには人工骨の吸収速度を生体反応と同等にする、すなわち組成を生体骨に近づけることが不可欠である。骨の無機主成分は炭酸アパタイトであることが知られており、人工的に炭酸アパタイトを調製できれば骨補填材料として有用であると考えた。

我々の研究室では、HMG-CoA reductase inhibitors(スタチン)による骨形成促進効果に着目して研究報告を行ってきた。スタチンとは、脂質異常症の治療薬(Goldstein,1990 Endo,1992)で、副作用がほとんどなく安全で安価・安定な薬剤であり、世界中で幅広く使用されている。また、コレステロールを低下させるだけでなく、骨形成促進作用(Mundy,1999)、骨質・骨量の改善効果(Ayukawa,2009 Masuzaki,2010)、抗炎症作用(Sakoda,2006 Rego,2007)、抗菌作用(Jerwood,2008)、血管新生促進作用(Altieri,2001 Maeda,2004 Liu,2009)、皮膚の治癒促進作用(Vukelic,2010)など、多面的作用が数多く報告されている。

これらの先行研究をもとに、炭酸アパタイトとスタチンの組み合わせた複合体が骨補填材料として有効である、との仮説を立て研究を行うこととした。

2. 研究の目的

まず、第一の目的として骨補填材料としての炭酸アパタイトに成長因子として作用することが期待されるスタチンを混合した複合体調製法を確立することとした。

次に、調製した複合体を用いて、動物実験を行い、炭酸アパタイト・スタチン複合体の骨補填材料としての有用性を検討することとした。

3. 研究の方法

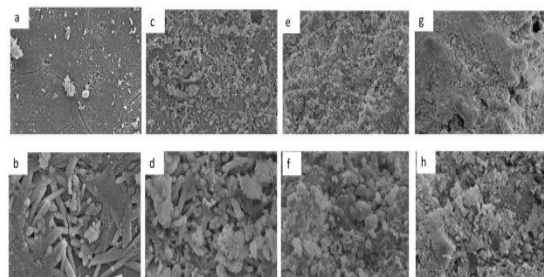
炭酸アパタイトの調整はセッコウを $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{NaHCO}_3$ 水溶液中で 200 48 時間水熱処理をすることで行った。水熱処理は専用の圧力フラスコを用いて行った。炭酸アパタイト・スタチン複合体の調整は、セッコウ粉末にフルバスタチン粉末を混合し、炭酸アパタイト調整法に準じて行った。

調製した試料は SEM、XRD を用いて解析を行った。

動物実験として、ラットを用いた。ラット下顎中切歯を抜去し、その抜歯窩に水酸アパタイト、炭酸アパタイト、水酸アパタイト+フルバスタチン、炭酸アパタイト+フルバスタチンを充填した群、コントロール群として何も充填しない群を用いた。2 週、4 週の治癒期間の後に実験動物(ラット)を屠殺し、マイクロ CT による新生骨の評価を行った。評価項目としては新生骨量(bone volume)、骨石灰化度(bone mineral density)、外周骨の厚み(Trabecular thickness)を用いた。

4. 研究成果

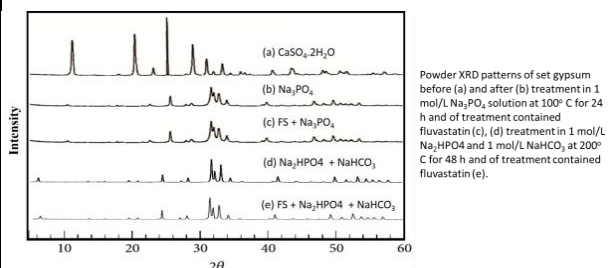
調製した試料の SEM 画像を以下に示す。



Scanning Electron Microscopic analysis of carbonate apatite block: (a,b) hydroxyapatite low crystalline (HA); (c,d) HA over statin complex block (HAFS); (e,f) carbonate apatite (CO); (g,h) CO over statin complex block (COFS)

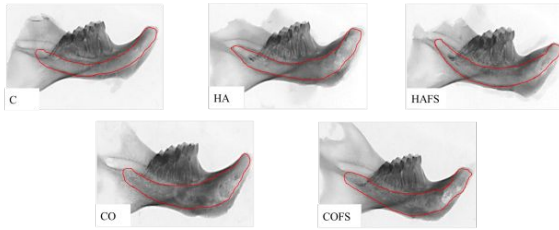
炭酸アパタイトの群では粒状の形態が確認された。

調製した試料の XRD を以下に示す。



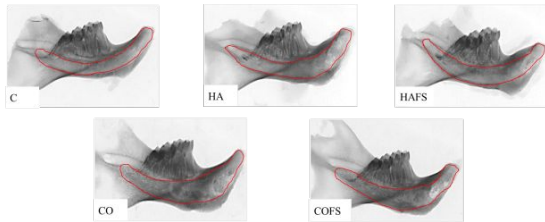
全ての群でアパタイトのピークが確認された。

2 週後の X 線データを以下に示す。



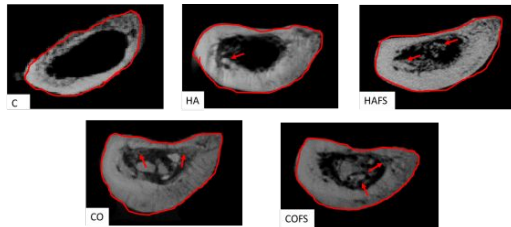
Micro-CT images of extracted lower right incisor socket area at 4 weeks in horizontal plane

4 週後の X 線データを以下に示す。



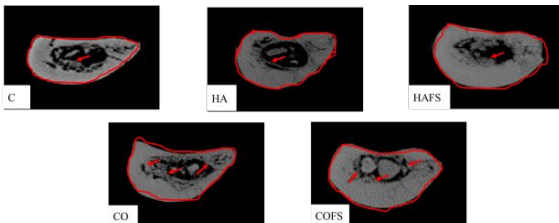
Micro-CT images of extracted lower right incisor socket area at 4 weeks in horizontal plane

2 週後の前頭断での X 線データを以下に示す



Micro-CT reconstruction images of extracted lower right incisor socket area at 2 weeks in vertical plane

4 週後の前頭断での X 線データを以下に示す



Micro-CT reconstruction images of extracted lower right incisor socket area at 4 weeks in vertical plane

得られたデータを解析したところ、炭酸アパタイト-フルバスタチン複合体を填入した群では、他の群と比較して優位に骨形成が促進されることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3 件)

1. Noriyuki Yasunami, Yasunori Ayukawa, Akihiro Furuhashi, Ikiro Atsuta, Yunia Dwi Rakhmatia, Yasuko Moriyama, Tomohiro Masuzaki, Kiyoshi Koyano.

Acceleration of hard and soft tissue healing in the oral cavity by a single transmucosal injection of fluvastatin-impregnated poly (lactic-co-glycolic acid) microspheres. An in vitro and rodent in vivo study. *Biomedical Materials*, 11(1), 2015. <http://iopscience.iop.org/article/10.1088/1748-6041/11/1/015001/meta>

2. Yunia Dwi Rakhmatia, Yasunori Ayukawa, Akihiro Furuhashi, Ikiro Atsuta, Kiyoshi Koyano, Fibroblast attachment onto novel titanium mesh membranes for guided bone regeneration, *Odontology*, 103(2), 218-226, May, 2015 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1883195813000029>

3. Yunia Dwi Rakhmatia, Yasunori Ayukawa, Akihiro Furuhashi, Kiyoshi Koyano, Micro-CT and histomorphometric analyses of novel titanium mesh membranes for guided bone regeneration: A study on rat calvarial defects, *The International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, *The International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, 29(4), 826-835, July, 2014 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25032762>

[学会発表](計 2 件)

1. Noriyuku Yasunami, Yasunori Ayukawa, Akihiro Furuhashi, Ikiro Atsuta, Yunia Dwi Rakhmatia, Yasuko Moriyama, Kiyoshi Koyano, Accelerated healing of extraction socket and peri-implant tissue by statin. *International Association for Dental Research*, Boston, USA, March 2015
2. Yunia Dwi Rakhmatia, Yasunori Ayukawa, Yohei Jinno, Akihiro Furuhashi, Kiyoshi Koyano, Effectiveness of novel micro-porous titanium mesh membrane for guided bone regeneration in early stage healing of canine mandible defect. *Indonesia Prosthodontic Society and Japan Prosthodontic Society Joint Meeting*, Bali, Indonesia, October, 2014

6. 研究組織

(1)研究代表者

氏名および所属研究機関名・部局名・職名
Yunia Dwi Rakhmatia

(Yunia Dwi Rakhmatia)
九州大学・大学病院・学術研究員
研究者番号：
30710214